

**FLUSSRATEN, GESAMTEIWEISS, TRYPSININHIBITOR
KALLIKREIN, IGA UND LYSOZYM-SEKRETIONS-
VERÄNDERUNGEN UND DISKELEKTROPHORETISCHE
AUFTRENNUNG VON SEKRETEN MENSCHLICHER
OHRSPICHELDRÜSEN MIT SIALADENOSEN UND
CHRONISCHEN ENTZÜNDUNGEN**

**Christa Hellwig
geb. Budczinski**

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. H. Naumann

FLUSSRATEN, GESAMTEIWEISS, TRYPSININHIBITOR
KALLIKREIN, IGA UND LYSOZYM-SEKRETIONSVERÄNDERUNGEN
UND DISKELEKTROPHORETISCHE AUFTRENNUNG
VON SEKRETEN MENSCHLICHER OHRSPEICHELDRÜSEN
MIT SIALADENOMEN UND CHRONISCHEN ENTZÜNDUNGEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Christa Budczinski

aus

Augsburg

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:	PD. Dr. H. Eichner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. H. Naumann
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	18. 5. 1978



Für die Bereitstellung des Themas und die Ermög-
lichung der experimentellen Arbeit möchte ich
Herrn Professor Dr.H.H.Naumann herzlich danken.
Herrn Privatdozent Dr.H.Eichner gilt mein beson-
derer Dank für seine freundliche Hilfe.

I n h a l t

	Seite
A Einleitung	1
B Theoretischer Teil	6
1. Sekretabnahme	6
2. Gesamtproteinbestimmung	6
3. Diskelektrophorese	7
4. Immunglobulin A	9
5. Lysozym	10
6. Kallikrein	11
7. Trypsininhibitor	12
C Experimenteller Teil	13
1. Patientengut	13
2. Sekretabnahme	14
3. Gesamtproteinbestimmung	14
4. Diskelektrophorese	15
5. Immunglobulin A	17
6. Lysozym	17
7. Kallikrein	19
8. Trypsininhibitor	20
D Ergebnisse	22
1. Normalprobanden	22
2. Patienten mit Sialadenosen	28
3. Patienten mit chron. Sialadenitiden	41
E Diskussion	50
Literaturverzeichnis	55

A E i n l e i t u n g

1. Bisherige Untersuchungen und neue Problemstellung

Die Diagnose von Ohrspeicheldrüsenerkrankungen stützt sich auf den klinischen, radiologischen und histologischen Befund; biochemische Untersuchungen des Sekretes spielten bisher eine geringe Rolle. In der Literatur finden wir nur vereinzelt Elektrolytbestimmungen bei Ohrspeicheldrüsenentzündungen. Im übrigen wurden Veränderungen des Speichels hauptsächlich als Folge von Allgemeinerkrankungen, z.B. Stoffwechselstörungen bei Diabetes und bei der Gicht beschrieben (BRANDS, VOGT, MANDEL, SEIFERT).

Über die Proteinzusammensetzung liegt eine Reihe von biochemischen Untersuchungen vor, die jedoch an Sammel- oder Mischspeichel gesunder Drüsen vorgenommen wurden (BHOOLA, BRANDTZAEG, FERGUSON, MAYO, WOTMAN). Da entsprechende Arbeiten über Sialadenosen und Sialadenitiden nicht bekannt sind, sollte das Sekretionsverhalten derartig erkrankter Drüsen untersucht und zum normalen Befund in Beziehung gesetzt werden. Neben der Bestimmung von Flußrate und Gesamteiweißausscheidung erfolgte die diskelektrophoretische Auftrennung der Proteine. Ferner

wurde der Gehalt an Immunglobulin A, Lysozym, Kallikrein und Trypsininhibitor ermittelt.

Die individuelle Variationsbreite der Speichelzusammensetzung hängt im wesentlichen von folgenden Faktoren ab, die es zu berücksichtigen galt:

Flußrate

Die Abnahme des Speichels erfolgte stets auf dieselbe Art. Für die Betrachtung der einzelnen Parameter war nicht die Konzentration sondern die Gesamtausscheidung pro Zeiteinheit entscheidend.

Stimulation

Der Reiz, dessen Dauer konstant gehalten wurde, erfolgte entweder gustatorisch mit Ascorbinsäure-Lutschtabletten oder durch subcutane Injektion von Pilocarpin (0,07 mg/kg Körpergewicht).

Hormonlage

Patienten mit Diabetes oder anderen hormonellen Störungen wurden von der Studie ausgeschlossen.

Alter und Geschlecht

Die Versuchsergebnisse an Normalprobanden zeigten, daß diese beiden Faktoren eine untergeordnete Rolle spielen, weshalb sie vernachlässigt wurden.

Diät

Alle Patienten waren stationär aufgenommen und erhielten dieselbe Krankenhauskost.

Plasmaspiegel

Vor der Speichelabnahme wurde die Konzentration der zu untersuchenden Substanzen bestimmt.

Psychische Faktoren

Die Sekretabnahme erfolgte stets im gleichen Raum, nachdem die Patienten ausführlich über Art und Zweck der Untersuchung informiert worden waren.

Tageszeit

Nach Untersuchungen von FERGUSON ist die Sekretion menschlicher Ohrspeicheldrüsen Zirkadianschwankungen unterworfen. Er fand einen biphasischen Zyklus der Flußrate, die ein Maximum etwa um 7 Uhr morgens zeigt, bis 13 Uhr absinkt, um gegen 19 Uhr wieder leicht anzusteigen. Für die Sekretabnahme wurde deshalb eine Phase mittlerer Sekretion gewählt, die Zeit zwischen 9 und 11 Uhr.

2. Zum Krankheitsbild der Sialadenose und Sialadenitis

Zahlreiche Untersucher beschäftigten sich mit der Beschreibung und genauen Definition des Krankheitsbildes " Sialadenose ". RAUCH verstand darunter eine protrahiert verlaufende, rezidivierende, schmerzlose Speicheldrüsenschwellung, die durch Mangelkrankheiten,

Hormondysregulationen oder neurogene Störungen verursacht werden kann. Da er vor allem vom klinischen Bild ausging, ordnete er in diese Gruppe auch Speicheldrüsenerkrankungen allergischer Ätiologie ein.

SEIFERT faßte aufgrund morphologischer Untersuchungen den Begriff enger und definierte eine Sialadenose als " nicht entzündliche parenchymatöse Speicheldrüsenerkrankung, die auf Stoffwechsel- und Sekretstörungen des Drüsenparenchyms beruht ". Er unterschied in der Pathogenese vier Stadien: Das Anfangsstadium mit Hypertrophie und Hyperplasie der Drüsenacini, ein Sekundärstadium mit Erschöpfung der Sekretionsleistung, ein drittes Stadium regressiver Veränderungen und schließlich ein viertes regeneratives Stadium. Die Krankheit geht dabei mit einer Funktionsstörung der Drüse einher; es zeigt sich zunächst eine Hypersalivation, die dann eine Normosialie, Hyposialie und Asialie übergeht.

Die entzündlichen Veränderungen der Kopfspeicheldrüsen teilt SEIFERT nach ätiologischen Gesichtspunkten ein in bakterielle, virale, mykotische und allergische Sialadenitiden. Unter die Entzündungen mit chronischer Verlaufsform ist die chronisch-rezidivierende Parotitis einzureihen, die bereits im Kindesalter auftritt.

Histologisch fällt ein zunehmender Schwund der serösen Acini auf, es finden sich Fibrosierungen des Drüsenkörpers, Gangregenerate und lymphozytäre interstitielle Infiltrate, was einen völligen Umbau der Drüse zur Folge hat.

Um besondere Erscheinungsformen der chronischen Sialadenitis handelt es sich bei folgenden Systemerkrankungen: Das von SJÖGREN beschriebene Krankheitsbild, das besonders bei Frauen im Klimakterium auftritt, gehört zu den rheumatischen Erkrankungen mit allergischen Gewebsreaktionen. Es ist charakterisiert durch das Sicca-Syndrom, rezidivierende Parotisschwellungen und rheumatoide Arthritis. Von pathognomonischem Wert sind sog. myoepitheliale Zellinseln, die aus Epithelproliferationen des Gangsystems hervorgehen und dessen Lichtungen verschließen.

Das von HEERFORDT entdeckte Syndrom, welches als Manifestationsform des Morbus Boeck in den Speicheldrüsen anzusehen ist, kennzeichnet die Trias " Uveitis, Parotisschwellungen und undulierendes Fieber ". Das histologische Bild zeigt ein epitheloides Granulationsgewebe, welches das Drüsenparenchym allmählich auflöst.

B Theoretischer Teil

1. Sekretabnahmemöglichkeit

Gewöhnlich wurde der Parotisspeichel mit Hilfe einer der vielen Varianten der sog. "LESHLEY-CUP " gewonnen. Dieses Gerät besteht aus zwei getrennten Kammern: die äußere ist mit einer Vakuumvorrichtung verbunden, um die Kapsel an der Mundschleimhaut zu befestigen; die innere Kammer sammelt das aus dem Drüsenausführungsgang abtropfende Sekret und gibt es über einen Schlauch nach außen ab. Mit dieser Vorrichtung ist es fast unmöglich, Reiz- und Ruhesekret zu trennen, da das Ansaugen einen nicht bestimmbar Reiz bedeutet. Außerdem stellt diese Art der Abnahme eine nicht unerhebliche Belastung für den Patienten dar. Deshalb bevorzugten wir die schonendere Kanülierung des Ductus parotideus.

2. Gesamtproteinbestimmung

Bei einem Vergleich von Untersuchungen zur Gesamtproteinausscheidung der Ohrspeicheldrüse zeigt sich, daß die Ergebnisse bei denselben Sekreten je nach angewandter Methode bis um den vierfachen Wert schwanken (SHURK, WOLF).

RAUCH fand nach Stimulation von Speicheldrüsen mit steigender Flußrate teils starken Anstieg, teils

Abfall der Proteinkonzentration. Er konnte keine Relation zum Minutenvolumen herstellen.

Wir verwandten die von MAURER angegebene Schnellbestimmung des Gesamtproteins im Liquor cerebrospinalis mit Hilfe einer modifizierten Biuretmethode, da die geringe Eiweißkonzentration des menschlichen Speichels analog der des Liquors mit der Standard-Biuretmethode nicht nachgewiesen werden kann. Durch Verwendung einer stark alkalischen Lösung von Kupfer(II)sulfat in 40 %iger Äthylenglykol-Lösung wird die Empfindlichkeit der Reaktion erhöht, ohne zusätzlichen zeitlichen oder apparativen Aufwand zu erfordern.

3. Diskelektrophorese

Zahlreiche Autoren (ARMSTRONG, BRANDTZAEG, CHAUNCEY, KAUFMANN, MANDEL, MASON, TOMASI, WOLF) untersuchten die einzelnen Proteinfractionen im gesunden menschlichen Parotissekret. Über Veränderungen der Eiweißzusammensetzung des Sekrets bei Sialadenosen und Sialadenitiden ist bisher nichts bekannt. Diese sollten mit Hilfe der Acrylamid-Diselektrophorese untersucht werden, die CALDWELL und PIGMAN erstmals zur Auftrennung von menschlichem Submandibularisspeichel benutzten.

Die Diskelektrophorese ermöglicht aufgrund eines dis-

kontinuierlichen Trennsystems hinsichtlich des pH-Wertes von Gel und Laufpuffer, ein Proteingemisch aufzuspalten. Durch Erzeugung sehr schmaler Startzonen wird gerade bei niedrigen Eiweißkonzentrationen der aufgetragenen Substanz eine scharfe Bandenstrukturierung erreicht.

Für das stärkere Auflösungsvermögen der Diskelektrophorese im Vergleich zur Papier- und Zelluloseacetatelektrophorese sind somit zwei physikalische Effekte verantwortlich. Der Konzentrierungseffekt läßt infolge der pH-Diskontinuität die Substanzen vor ihrer Trennung eine scharf begrenzte Zone bilden. Der Molekularsiebeffekt, verursacht durch erhöhte Reibungswiderstände des Gels, bewirkt, daß die einzelnen Proteinfaktionen neben ihrer elektrischen Ladung auch bezüglich ihrer Größe und Gestalt, d.h. Molekulargewicht und Tertiärstruktur, aufgetrennt werden. Dieser Molekularsiebeffekt ist von besonderer Bedeutung für Proteine, die gleiche Ladung, jedoch unterschiedliche Größe besitzen, da sie mit trägerfreiem Elektrophoresen nicht getrennt werden können.

Zur Auftrennung wurde ein 7,5 %iges Acrylamid-Mittelporgel, pH 8,8 verwandt, das sich nach Voruntersuchungen mit anderen von MAURER angegebenen Acrylamidgelen als optimal für die Speichelproteinauftrennung

herausgestellt hatte. Dieses Gel trennt Proteingemische mit einem Molekulargewicht von 10^4 bis 10^6 auf und besitzt einen optimalen Trennbereich bei 3×10^4 bis 10^5 .

Das Polyacrylamidgel entsteht als Polymerisationsprodukt aus Acrylsäureamid $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ und einem Vernetzer, N,N'-Methylbisacrylsäureamid $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$. Viskosität, Elastizität und Festigkeit des Gels hängen teils vom Polymerisationsgrad (Kettenlänge) des Polyacrylamids, teils vom Vernetzungsgrad ab.

4. Immunglobulin A

Die Immunglobulinzusammensetzung der mukösen Membranen unterscheidet sich wesentlich von der des Serums. Dabei bildet Immunglobulin A den Hauptanteil im Speichel, während es im Serum nur ein Sechstel aller Immunglobuline ausmacht. Die von PIERCE, GABL, TOMASI, CHODIRKER, ADINOLFI, SOUTH angegebenen Werte für den Immunglobulin A-Gehalt des Parotissekretes schwanken zwischen 0,6 und 49,2 mg%. Von verschiedenen Autoren wurde gezeigt, daß das Speichel-IgA zwar mit dem Serum-IgA kreuzreagiert, jedoch physikalische und strukturchemische sowie serologische Besonderheiten aufweist.

Das IgA des Speichels, auch sekretorisches IgA genannt, besitzt ein höheres Molekulargewicht, da es eine dimere Form des Serum-IgA darstellt. Dabei bilden zwei monomere IgA-Moleküle, bestehend aus je zwei H- und L-Ketten, zusammen mit Glykoproteinen, dem sog. " sekretorischen Stück " und der I-Kette eine komplexe Verbindung. Sekretorisches IgA zeigt ein ausgeprägtes Agglutinationsvermögen; seine Bildung wird wahrscheinlich durch Kontakt der Schleimhäute mit Antigenen ausgelöst.

Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen über Synthese und Funktion des Speichel-IgA sind widersprüchlich. LEHNER, CARDWELL, CLARRY, ZENGO fanden erhöhte IgA-Spiegel bei Personen mit stärkerer Widerstandsfähigkeit gegen Karies. MANDEL und KHURANA stellten fest, daß sekretorisches IgA mit zunehmender Flußrate abnimmt; es wäre deshalb möglich, daß die hohe Konzentration an Speichel-IgA zu Zeiten minimaler Stimulation, z.B. während des Schlafes, einen Schutz gegen Bakterien verleiht.

5. Lysozym

Das Lysozym des Speichels, das FLEMING erstmals beschrieb, findet sich in der Ohrspeichel-, Unterkiefer- und Unterzungendrüse sowie in den Lysosomen der Leukozyten. ALBERTON und JOLLES isolierten das Enzym in

kristalliner Form aus Hühnereiweiß.

Lysozym ist ein basisches Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 14000 bis 15000 und einem isoelektrischen Punkt um 11,0. Seine Bedeutung besteht darin, daß es die Hauptbestandteile der Zellwände bestimmter Staphylokokken, hämolytischer Streptokokken, Gonokokken und Meningokokken hydrolysiert. Pneumokokken, Kolibakterien und Diphtheriebazillen sind in vitro resistent, werden jedoch in Anwesenheit von Komplement, Lipasen und Proteasen aufgelöst, da diese durch Freisetzung des Substrates mit Lysozym synergistisch wirken (FLEMING, MEYER, JOLLES, SALTON).

In vielen Sekreten wie Speichel, Sputum, Nasen- und Tränensekret kommt Lysozym gemeinsam mit IgA vor; man vermutet, daß es das Immunglobulin antibakteriell wirksam macht.

6. Kallikrein

SECKER und FELDBERG zeigten erstmals, daß intravenös applizierter Speichel eine blutdrucksenkende Wirkung besitzt. WERLE und RODEN konnten die Identität dieser Reaktion mit der Kallikreinwirkung beweisen.

In den Mundspeicheldrüsen liegt Kallikrein im Gegensatz zum Plasma in enzymatisch aktiver Form vor. Seine Anwesenheit in Schweiß- und Speicheldrüsen sowie im

exokrinen Anteil des Pankreas hat zur Folge, daß Bradykinin, ein vasodilatatorisches Peptid, während der Sekretion gebildet wird, was möglicherweise die Durchblutung dieser Gewebe steigert.

7. Trypsininhibitor

Während im unteren Respirationstrakt das α_1 -Antitrypsin die stärkste Abwehrkraft besitzt, wird im oberen Abschnitt die wesentliche Schutzfunktion gegen freiwerdende proteolytische Aktivität von niedermolekularen säurestabilen Proteaseninhibitoren ausgeübt, wie HOCHSTRASSER und REICHERT zeigen konnten. Bisher wurde das Vorkommen eines derartigen Faktors im Parotisspeichel nicht beschrieben.

C Experimenteller Teil

1. Patientengut

Das Patientenkollektiv setzte sich folgendermaßen zusammen:

10 Normalprobanden als Kontrollgruppe;

12 Patienten mit histologisch gesicherter Sialadenose, bei denen sowohl mit Pilocarpin als auch mit Ascorbinsäure gereizt wurde;

11 Patienten mit chronischer Sialadenitis, bei denen nur mit Ascorbinsäure gereizt wurde:

2 Jugendliche mit sialographisch diagnostizierter rezidivierender Sialadenitis,

4 Patienten mit histologisch gesichertem Morbus SJÖGREN,

5 Patienten mit durch bakteriologische Untersuchung bestätigter chronisch-rezidivierender bakterieller Sialadenitis;

Da sich trotz uneinheitlicher Genese der chronischen Entzündungen keine signifikanten interindividuellen, krankheitsspezifischen Unterschiede in den biochemischen Befunden zeigten, konnten alle Ergebnisse zusammengefaßt werden. Lediglich bei der Diskelektrophorese wurde unterschieden zwischen chronischen Parotitiden, die klinisch unauffällig waren, und solchen, welche das Bild der akuten Phase boten.

2. Methode der Sekretabnahme

Nach Aufsuchen des Ductus parotideus wurde in diesen ein flexibler Polyvinylkatheter mit einem Gesamtdurchmesser von 1 mm und einem inneren Durchmesser von 0,5 mm eingeführt und etwa 2 cm intraluminal fixiert. Das abtropfende Sekret wurde in einem Fraktionsteiler in graduierten Zentrifugengläsern gesammelt und während der gesamten Abnahme in Eiswasser gekühlt. Die erste Portion der 10-Minuten-Fraktionen wurde verworfen.

3. Methode der Gesamtproteinbestimmung

1,5 g Kupfersulfat wurden in 10 ml destilliertem Wasser aufgelöst und mit 40 ml Äthylenglykoll durchmischt. Unter ständigem Schütteln wurde mit 2n Natronlauge auf 100 ml aufgefüllt. Diesem Reagenz wurden 0,4 ml entnommen und zusammen mit 2 ml Wasser in eine Küvette pipettiert; darauf konnte an einem Eppendorf-Photometer bei einer Wellenlänge von 546 nm der Leerwert des Ansatzes abgelesen werden.

Als Bezugsstandard diente statt Serum oder Rinderalbuminlösung dialysiertes und lyophilisiertes Parotis-Reizsekret, um eine optimale Vergleichsmöglichkeit zu

erhalten. Von der Trockensubstanz wurde eine 2 %ige Eichlösung gewonnen und aus dieser eine Verdünnungsreihe mit Konzentrationen von 0,5 bis 20 mg/ml hergestellt. Die Extinktionswerte der Proben (2 ml Standard + 0,4 ml Reagenz) lieferten eine Eichkurve, die es ermöglichte, durch entsprechenden Extinktionsvergleich die Gesamteiweißkonzentration der Speichelprouben zu berechnen.

4. Methode der Diskelektrophorese

Die Gele wurden in 12 cm langen, an beiden Enden abgeschliffenen Glasröhrchen mit einem Durchmesser von 0,8 cm gegossen. Zur Anfertigung der Gele wurden drei Lösungen benötigt:

Lösung I enthält pro 100 ml 48 ml 1n Salzsäure, 36,8 g Trishydroxymethylammoniummethan und 0,8 g N,N,N',N'-Tetramethylendiamin.

Lösung II besteht pro 100 ml aus 30 g Acrylamid und 0,8 g N,N'-Methylenbisacrylamid.

Lösung III, die im Gegensatz zu den beiden anderen Lösungen stets frisch angesetzt werden muß, enthält 60 mg Ammoniumperoxodisulfat in 100 ml Wasser.

Lösung I, II und III wurden im Verhältnis 1 : 2 : 4 gemischt, dazu kam ein Teil destilliertes Wasser. Mit diesem Sol wurden die mit einem Stück Plastikfolie abgedichteten Röhrchen bis zu einer Marke in Höhe von

etwa 10 cm gefüllt. Unter Luftabschluß erfolgte die Polymerisation; die zu diesem Zwecke aufgetragene Wasserschicht konnte nach 45 Minuten wieder abgesaugt werden. Nun wurde mit Trisglycinpuffer, pH 8,4 aufgefüllt und die Puffer-Gel-Trennschicht vorsichtig mit Nativspeichel (0,1 ml pro Gel) unterschichtet. Die Auftrennung geschah in einem Vorlauf zur Zonenschärfung über 10 Minuten bei 2 mA und einem einstündigen Hauptlauf bei 5 mA pro Gel. Während des Einwanderns der Proteine in das Trenngel wurde die niedrigere Stromstärke gewählt, um wegen des relativ hohen elektrischen Widerstandes die Gefahr der thermischen Zerstörung der Proteine zu verringern.

Nach erfolgter elektrophoretischer Auftrennung wurden die Gele den Röhrchen entnommen und der Coomassie-Brillantblue-Färbung unterzogen: Nach Fixierung mit Trichloressigsäure wurden die Gele in einer 1 %igen Coomassie-Brillantblue-Lösung während 24 Stunden angefärbt und anschließend in 7,5 %iger Essigsäure über 36 Stunden entfärbt.

Zur quantitativen Auswertung der auf diese Weise dargestellten Proteinfractionen wurden die Gele densitometriert. Neben der Aufzeichnung von einzelnen Banden entsprechenden Spitzen erfolgte die Registrierung der Impulszahl, sodaß die Relativprozentanteile der Fractionen errechnet werden konnten.

5. Methode der Immunglobulin A-Bestimmung

Die quantitative Bestimmung des Speichel-IgA wurde mit LC-Partigen Immundiffusionsplatten der Behring-Werke Marburg vorgenommen (LC = low concentration). Die Platten, welche 12 Vertiefungen für die zu untersuchenden Proben aufweisen, sind mit einer spezifisches IgA-Antiserum enthaltenden Agargelschicht überzogen.

Nach Auftragen von je 0,02 ml Speichel bzw. Standardserum mit Hilfe einer Hamilton-Mikroliterspritze wurden die Platten verschlossen und 48 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Sodann konnten die Durchmesser der Präzipitationsringe gemessen werden.

Die Berechnung erfolgte anhand einer mit Standard-IgA verschiedener Konzentrationen gewonnenen Eichkurve, bei der die ermittelten Durchmesser quadriert gegen die einzelnen Konzentrationen aufgetragen wurden.

6. Methode der Lysozymbestimmung

Die Lysozymbestimmung basiert auf der bakteriolytischen Wirkung des Enzyms gegenüber durch Hitze abgetötete Keime von *Micrococcus lysodeicticus*, die in einer Gelsuspension auf Lysoplaten aufgetragen werden. Die Stärke der Bakteriolyse wird an dem Ausmaß der Klärungszone inmitten der bakteriellen Trübung sichtbar.

Zur Herstellung des Agarosegels wurden 5 g Agarose bei Raumtemperatur in 50 ml Natrium-Kalium-Phosphatpuffer suspendiert, der sich aus 81,5 ml einer Lösung von Kaliumdihydrogenphosphat (9,08 g in 1 l Wasser) und 18,5 ml einer Lösung von Dinatriumhydrogenphosphat (118,8 g in 1 l Wasser) zusammensetzt. Die suspendierte Agarose wurde mit 450 ml desselben Puffers unter kräftigem Rühren bis zur Klärung der Suspension gekocht, in der nun 50 mg Äthylenmercurithiosalicylsäure-Natriumsalz (Merthiolat) gelöst wurden. Das auf diese Weise angefertigte Gel konnte luftdicht verschlossen in 100 ml-Portionen aufbewahrt werden. Vor Gebrauch mußte das Gel wieder aufgekocht und dann auf 63° C abgekühlt werden.

In 100 ml Agarosegel wurden 100 mg lyophilisierte *Micrococcus-lysodeicticus*-Zellen (Serva-Heidelberg) gleichmäßig suspendiert. Von dieser Gelsuspension wurden jeweils 25 ml auf eine Lysoplatte pipettiert. Nach dem Erkalten wurden mit einer Saugstanze 16 gleich große Löcher für die Speichelproben in das Gel gestanzt.

Zur Erstellung einer Eichkurve diente zweifach umkristallisiertes, salzfreies, lyophilisiertes reinstes Lysozym (Hühnereiweiß-Lysozym LYSF der Fa. Worthington Biochem. Corp. New Jersey). Es wurden mit Kochsalz-

Lösung verdünnte Standard-Lösungen aufgetragen, die jeweils 5, 10, 50 und 100 µg Lysozym pro ml enthielten. Nach genau 16 Stunden wurden die Durchmesser der Klärungszonen bestimmt und auf semilogarithmischem Papier für die entsprechenden Lysozymkonzentrationen eingezeichnet.

7. Methode der Kallikreinbestimmung

Die Bestimmung des Kallikrein erfolgte indirekt durch Messung der BAEE-Esterase-Aktivität nach der Methode von TRAUTSCHOLD und WERLE. Das Prinzip beruht darauf, daß Kallikrein aus N-Benzoyl-L-Argininäthylester (BAEE) Äthanol freisetzt, welches mit Hilfe von Alkoholdehydrogenase bestimmt wird.

In Küvetten von 1 cm Schichtdicke wurden folgende Substanzen pipettiert: 0,63 ml Pyrophosphat-Semicarbazid-Glycin-Puffer, pH 8,7, 0,05 ml einer wäßrigen Lösung von Nicotinamid-adenin-dinucleotid, 0,10 ml einer wäßrigen Lösung von N-Benzoyl-L-Argininäthylesterhydrochlorid und 0,01 ml einer Suspension von Hefe-Alkoholdehydrogenase.

Nach 5 Minuten Inkubationszeit bei 25° C wurden 100 µl bzw. 160 µl destilliertes Wasser und die Speichelproben (50 µl bei Ruhe-, 100 µl bei Reizsekret) zugegeben, sodaß sich ein Endvolumen von 1,0 ml ergab. Nach er-

neuter Inkubationszeit von 2 Minuten konnte dann an einem Zeiß-PMQII-Spektralphotometer mit auf 25° C thermostatiertem Küvettenhalter die Extinktionszunahme gegen Wasser in der Vergleichsküvette beobachtet werden. Den Leerwert der Reagenzien lieferte ein Ansatz ohne Speichelprobe.

Die Berechnung der BAEE-Esterase-Aktivität erfolgte in Millieinheiten (mU) : 1 mU ist definitionsgemäß die Menge Enzym, die unter oben genannten Reaktionsbedingungen in der Minute 1 mMol Äthanol aus dem Substrat freisetzt.

8. Methode der Trypsininhibitorbestimmung

Der Messung des Proteaseninhibitors liegt folgendes Prinzip zugrunde: Trypsin setzt aus N-Benzoyl-Arginin-p-Nitroanilid (BAPA) den gelben Farbstoff p-Nitroanilin frei. Diese Reaktion kann durch entsprechende Sekretmengen gehemmt werden.

In Küvetten von 1 cm Schichtdicke wurden 0,2 ml einer 0,025n Salzsäurelösung, die 10 µg Trypsin enthielt, das zu untersuchende Sekret (je nach Aktivität des Speichels 0,1 bis 0,3 ml) gegeben. Mit 0,2m Triäthanolamin-Puffer, pH 7,8 wurde auf 2 ml aufgefüllt und nach einer Inkubationszeit von 2 Minuten 1 ml der Substratlösung BAPA (Endkonzentration = $0,73 \times 10^{-4}$) hinzugefügt.

An einem Eppendorf-Photometer wurde bei 25⁰ C und einer Wellenlänge von 405 nm die Extinktionszunahme je viermal im Abstand von einer Minute abgelesen. Die Mittelwerte der Extinktionsdifferenzen zwischen Testlösung und Leerwert konnten nun verglichen werden und ergaben nach Umrechnung den Sekretgehalt an Trypsinhemmstoff.

D E r g e b n i s s e

1. Normalbefunde

Dieser Arbeit liegen die Ergebnisse von Untersuchungen an einem Normalkollektiv durch EHRICH, SCHIMMEL und HEPPERLE zugrunde. An 10 Kontrollpersonen wurden folgende damit übereinstimmende Befunde erhoben.

Flußrate

Die Ruhesekretion der untersuchten Personen schwankte zwischen 0,04 und 0,10 ml/min/Drüse. Unter Ascorbinsäurereiz stieg die Sekretion auf 0,2 bis 0,5 ml/min/Drüse an, um sich nach Absetzen des Reizes rasch wieder auf Ruhesekretionswerte einzustellen. Bei erneutem Reiz durch subcutane Applikation von 0,07 mg Pilocarpin/kg Körpergewicht zeigte sich nach etwa 20 Minuten ein Sekretionsmaximum, das die Werte bei Stimulation mit Ascorbinsäure um 30 % überstieg. Bei getrennter Stimulierung mit Ascorbinsäure oder Pilocarpin fanden sich keine wesentlichen Unterschiede in den Flußratenmaxima.

Gesamtproteinausscheidung

Bei allen Drüsen lag die Gesamtproteinausscheidung um 0,25 mg/min/Drüse; Altersunterschiede waren zu vernachlässigen. Nach Ascorbinsäure- sowie nach Pilo-

carpinreiz stieg die Proteinsekretion stark an, wobei das Maximum nach Pilocarpinstimulation einen vergleichsweise höheren Wert erreichte.

Diskelektrophorese

Es zeigten sich bei allen Speichelproben je nach Ruhe- oder Reizzustand der Drüse 13 bis 16 Banden, die vom Auftragungspunkt her mit den Buchstaben a bis j bezeichnet wurden (Abb. 1 u. 2). Die Banden a, b, c und die Zwischenzone c₁ stellen die Glykoproteine dar. Die Bandengruppe d₁ bis d₄ entspricht den Isoamylasen, die Bande h dem Albumin.

Nach Stimulation fanden sich folgende charakteristische Veränderungen: Die Banden a, b, c sowie die Zone c₁ wurden schwächer. Die Bandengruppe d₁ bis d₄ verbreiterte sich und nahm an Farbintensität zu. Die folgende e-Bande, die man nicht bei allen Probanden sehen konnte, wurde unscharf und teilte sich in zwei schwächere Banden e₁ und e₂ auf. Die signifikantesten Veränderungen zeigten sich im Bereich der Bandengruppe f, g, h, i und j. Während im Ruhesekret die h-Bande die stärkste der fünf Banden war, wurde sie bei Reiz zunehmend schwächer, um schließlich fast ganz zu verschwinden. Die Banden f und g nahmen gering an Intensität zu, am stärksten in dieser Gruppe trat nun die

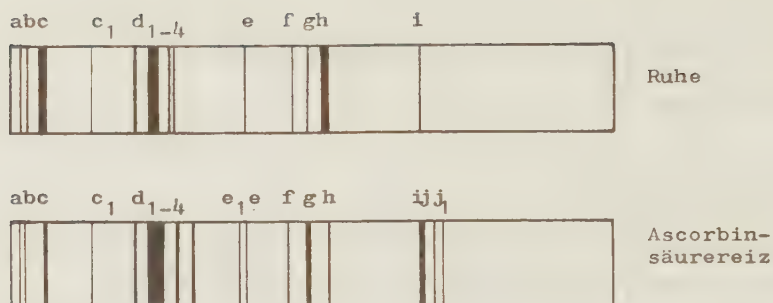


Abb. 1 Schematischer Überblick der Bandenstruktur im Ruhe- und Reizsekret



Abb. 2 Diskelektrophoretische Auftrennung eines normalen Parotissekretes in Ruhe und Reiz

i-Bande hervor. Zusätzlich entstand bei Reiz die Doppelbande j und j_1 .

Nach Absetzen des Ascorbinsäurereizes lieferte die folgende Fraktion wieder das alte Bandenmuster mit den beiden stärksten Banden h und i; nach Pilocarpin-stimulation blieb die Veränderung über einen Zeitraum von 60 bis 80 Minuten bestehen.

Immunglobulin A

Die IgA-Konzentrationen im Ruhesekret zeigten eine große Streubreite mit Werten von 3 bis 30 mg %, ohne deutlichen Altersunterschied. Unter Ascorbinsäurereiz fiel sie nach 20 Minuten auf 15 % des ursprünglichen Wertes ab, um dann über längere Zeit konstant zu bleiben. Nach Pilocarpinreiz nahm sie entsprechend der Flußratenveränderung langsam wieder zu.

Nach Umrechnung der Konzentration auf die Gesamtausscheidung an IgA war die Streubreite wesentlich geringer. Die sezernierte Menge stieg bei Reiz zunächst auf Werte zwischen 15 und 40 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{Drüse}$, erreichte jedoch nach etwa 30 Minuten wieder annähernd den Ausgangswert.

Lysozym

Die Lysozymkonzentration im Ruhesekret schwankte ebenso stark wie die Immunglobulin A-Konzentration. Es wurden Werte von 1,6 bis 52 mg % gemessen. Unter Berücksichtigung der Flußrate ließ sich der Streubereich wiederum deutlich einengen, nämlich zwischen 8 und 16 ug/min/Drüse. Der Ascorbinsäurereiz verursachte einen kurzen Anstieg der Lysozymausscheidung um ein Mehrfaches der Ruhesekretion, die nach 10 Minuten wieder erreicht wurde. Nach Pilocarpinreiz zeigten alle Drüsen höhere Ausscheidungsmaxima als nach der Ascorbinsäurestimulation.

IgA-Lysozym-Korrelation

Beim Vergleich zwischen IgA- und Lysozymausscheidung ließ sich ein ungefähr reziprokes Verhalten beider Parameter feststellen, d.h., daß bei hoher IgA-Produktion wenig Lysozym sezerniert wurde und umgekehrt.

Kallikrein

Die Konzentration der BAEE-Esterase im Ruhesekret wies erhebliche Schwankungen von 8 bis 48 mU/ml auf. Nach Ascorbinsäurereiz fielen die Werte bei gleichbleibender Flußrate rasch ab und betrugen bereits nach 10 Minuten 30 bis 40 % der Ausgangskonzentration.

Bei Pilocarpinstimulation erfolgte der Abfall langsamer; nach 10 Minuten waren 70 bis 45 % des Ausgangswertes erreicht.

Die Gesamtausscheidung an BAEE-Esterase lag im Ruhesekret zwischen 1,2 und 3,6 mU/min. Unter Ascorbinsäurereiz stieg sie auf 3 bis 11 mU/min. Bei Pilocarpinreiz war der Streubereich größer; nach 10 Minuten ergaben sich Ausscheidungsmaxima von 1,8 bis 12 mU/min.

Trypsininhibitor

Die Konzentration an proteaseninhibitorischer Aktivität im Ruhesekret schwankte stark zwischen 1 und 25 mU/ml. Bei Ascorbinsäurestimulation zeigte sich ein Konzentrationsabfall, während Pilocarpinreiz bei einem Teil der Probanden einen Anstieg bewirkte.

Die Gesamtausscheidung betrug in Ruhe 0,8 bis 3 mU/min, unter Reiz stieg sie um ein Vielfaches an. Umrechnung auf die Gesamtproteinausscheidung ergab, daß 1 mg sezerniertes Protein 3 mU inhibitorische Aktivität enthielt.

2. Sialadenosen

Flußrate

In Ruhe lagen die Flußraten im Vergleich zum Normalkollektiv deutlich höher. Nach Pilocarpinreiz setzte die Wirkung verspätet ein, hielt jedoch länger an. Von den meisten der untersuchten Drüsen wurden die Basissekretionswerte innerhalb der darauffolgenden 50 Minuten nicht wieder erreicht; sie befanden sich zu diesem Zeitpunkt noch hoch über dem Ausgangswert. Nach Stimulation mit Ascorbinsäure zeigte sich im Sekretionsverhalten kein signifikanter Unterschied zum Normalkollektiv. (Abb. 3 u. 4)

Gesamtprotein

Die Eiweißausscheidung im Ruhesekret war normal, bei Berücksichtigung der Flußrate fand sich jedoch eine niedrigere Proteinkonzentration. Nach Pilocarpinreiz fiel sie im Gegensatz zum normalen Verhalten stark ab, sodaß auch die Ausscheidung signifikant unter dem Normbereich blieb. Unter Ascorbinsäurereiz kam es zu einem kurzen Anstieg der ausgeschiedenen Proteinmenge. Die Drüsen waren jedoch schneller erschöpft als normalerweise, wobei die Proteinkonzentration bei gleichbleibender Flußrate abnahm. (Abb. 5)

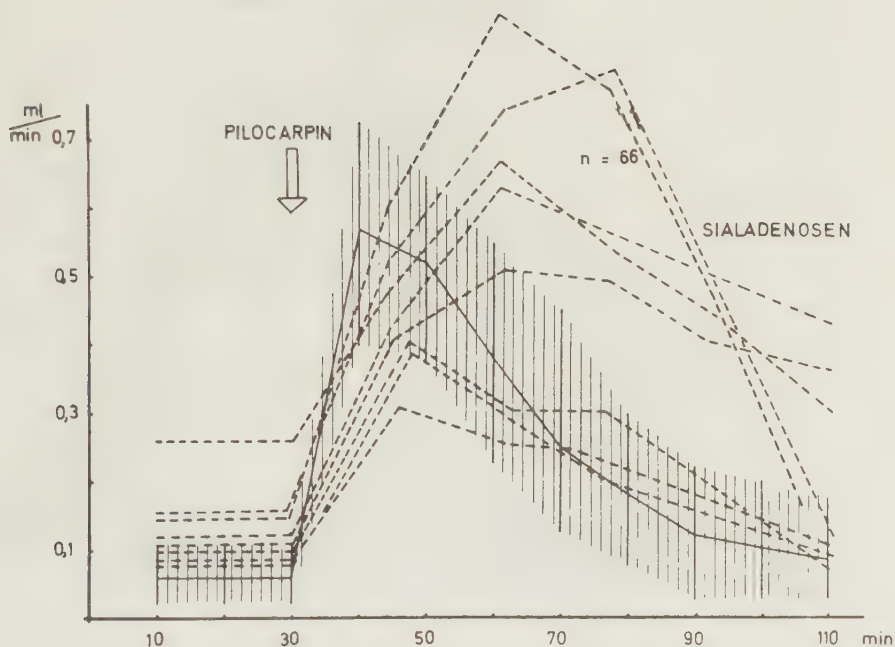


Abb. 3 Flußratenkurve der Sialadenosen (gepunktet) in Ruhe und nach Pilocarpinreiz. Die Ruhewerte liegen deutlich höher als normal (Normbereich schraffiert). Die Reizwirkung setzt verspätet ein, hält jedoch länger an.

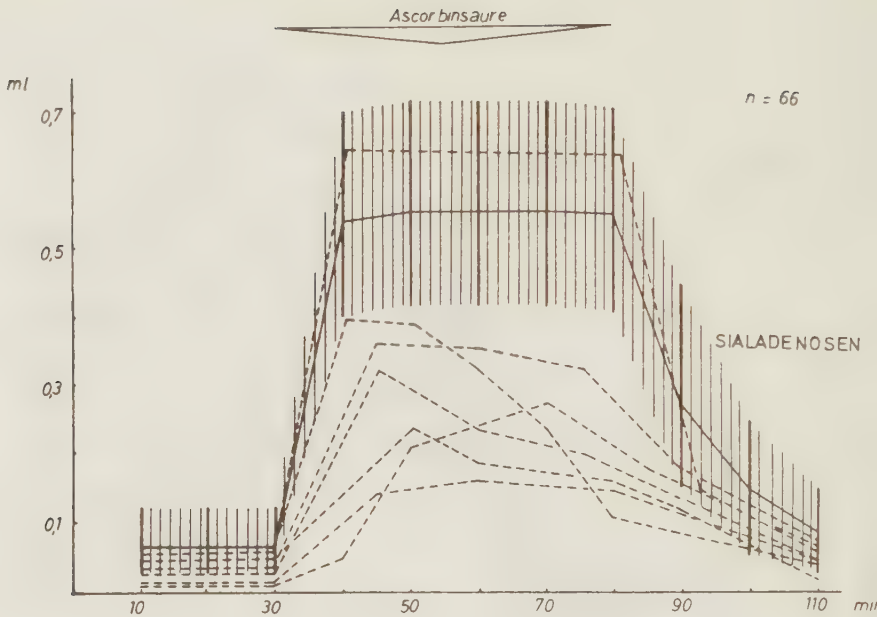


Abb. 4 Flußratenkurve der Sialadenosen in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Ruhe- und Reizsekretionen liegen im unteren Normbereich bzw. darunter.

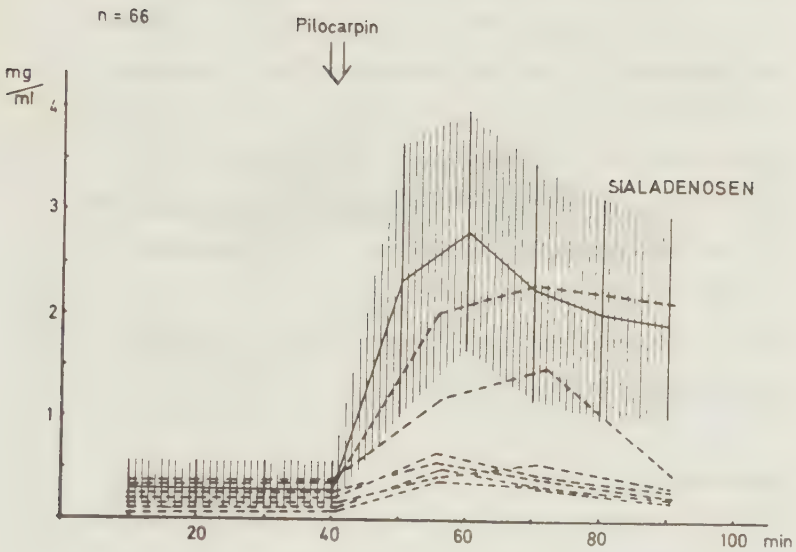


Abb. 5 Gesamtproteinausscheidung der Sialadenosen in Ruhe und nach Pilocarpinreiz. Die Ruhesekretion ist normal, bei Reiz bleibt die Ausscheidung signifikant unter der Norm.

Diskelektrophorese

Die Sialadenosen zeigten infolge der geringeren Eiweißkonzentration im Sekret eine blässere Zeichnung der Bandenstrukturen. Neben einer Abschwächung der Zwischenzone c_1 , die den Hauptanteil der Glykoproteinfraction darstellt, fand sich eine deutliche Verschrämlerung vor allem bei den Isoamylasen (d_{1-4}). Auch die Banden im anodennahen Gelbereich (f, g und ij) waren vermindert anfärbbar; die Albuminbande h hingegen blieb gut erkennbar. Bei Reiz fiel außer einer Verschrämlerung der d-Gruppe kein Unterschied zu den normalen Reizsekreten auf. (Abb. 6)

Immunglobulin A

Die Ruhesekretion lag bei den meisten der untersuchten Drüsen unter dem Normbereich. Auch nach Pilocarpinreiz erreichten nur zwei Patienten normale Werte, d.h. daß die Sekretionsfähigkeit für IgA leicht eingeschränkt war. Nach Stimulation mit Ascorbinsäure stieg jedoch die sezernierte IgA-Menge bei erniedrigten Ruhesekretionswerten auf Normalwerte an und blieb zum Teil im oberen Bereich der Norm.

(Abb. 7 u. 8)

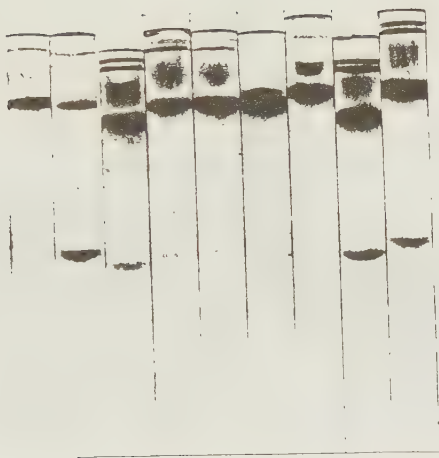


Abb. 6 Diskelektrophoretische Auftrennung des Sekretes
einer an Sialadenose erkrankten Glandula Parotis
bei Ruhe und Reiz

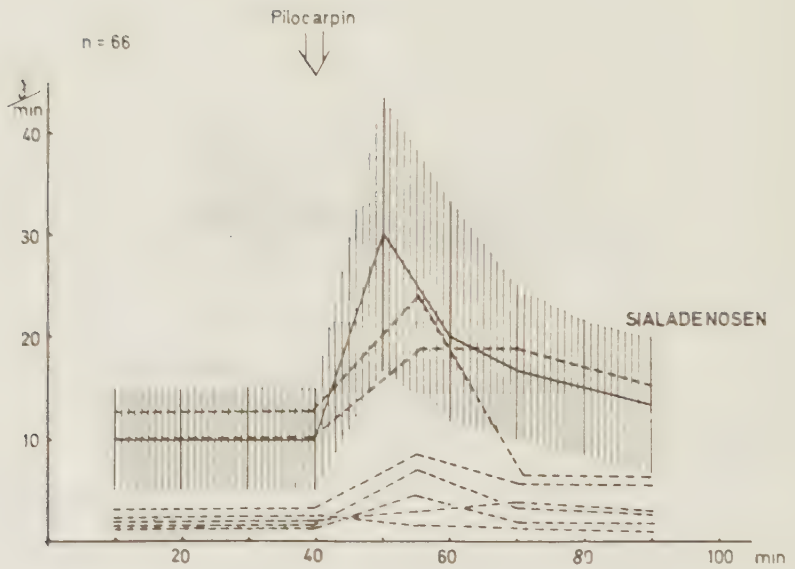


Abb. 7 Gesamt-Immunglobulin A-Ausscheidung bei Sialadenosen in Ruhe und nach Pilocarpinreiz. Ruhe- und Reizsekretion liegen unter dem Normbereich.

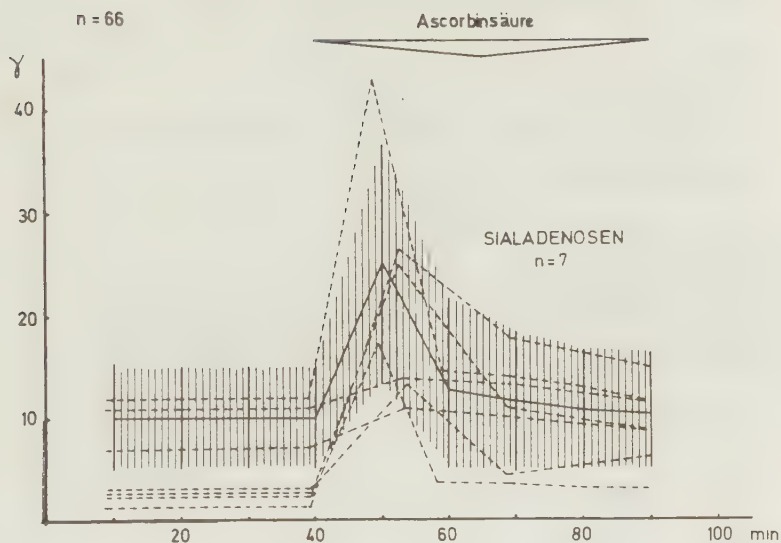


Abb. 8 Gesamt-Immunglobulin A-Ausscheidung bei Sialadenosen in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Ruhesekretion ist teils normal, teils erniedrigt, unter Reiz werden Normalwerte erreicht.

Lysozym

Die ausgeschiedene Lysozymmenge im Ruhesekret befand sich bei den meisten Drüsen unter dem Normbereich und erreichte bei Stimulation zum Teil normale Werte. Die Drüsen zeigten sowohl unter Pilocarpin- als auch unter Ascorbinsäurestimulation, selbst bei Dauerreiz keine Erschöpfung. (Abb. 9)

Kallikrein

Die BAEE-Esterase-Sekretion verhielt sich etwa bei der Hälfte der untersuchten Patienten normal, bei den übrigen lag sie im unteren Normbereich, bzw. gering darunter. Die niedrigen Werte ergaben sich nach Ascorbinsäurestimulation. (Abb. 10 u. 11)

Trypsininhibitor

In Ruhe war die Ausscheidung normal bis erhöht; sie stieg unter Reiz langsam an und erreichte bis zum Ende der Untersuchung die Ausgangswerte nicht mehr, sondern blieb deutlich über den Basissekretionswerten. (Abb. 12)

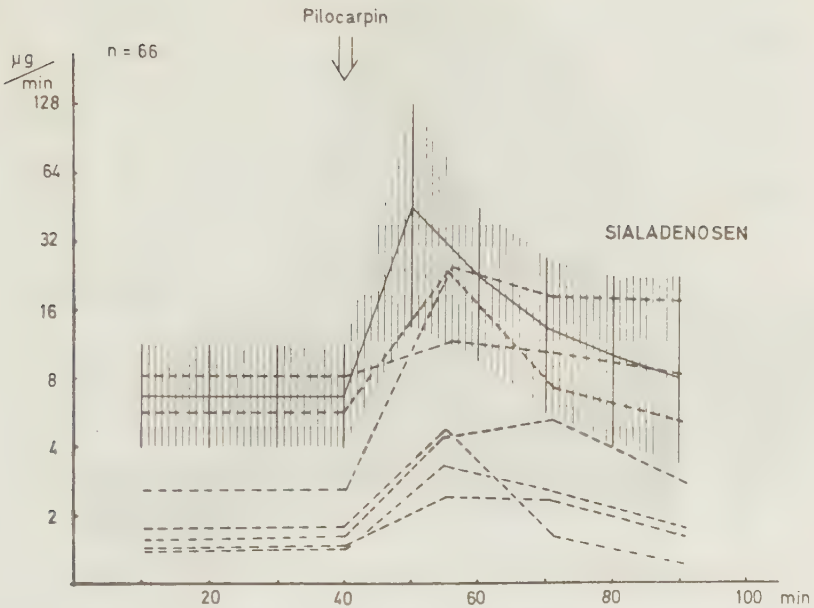


Abb. 9 Gesamt-Lysozymausscheidung bei Sialadenosen in Ruhe und nach Pilocarpinreiz. Die Ruhesekretion liegt überwiegend unter dem Normbereich, unter Reiz erreicht der eine Teil der Drüsen Normalwerte, während der andere unter der Norm bleibt.

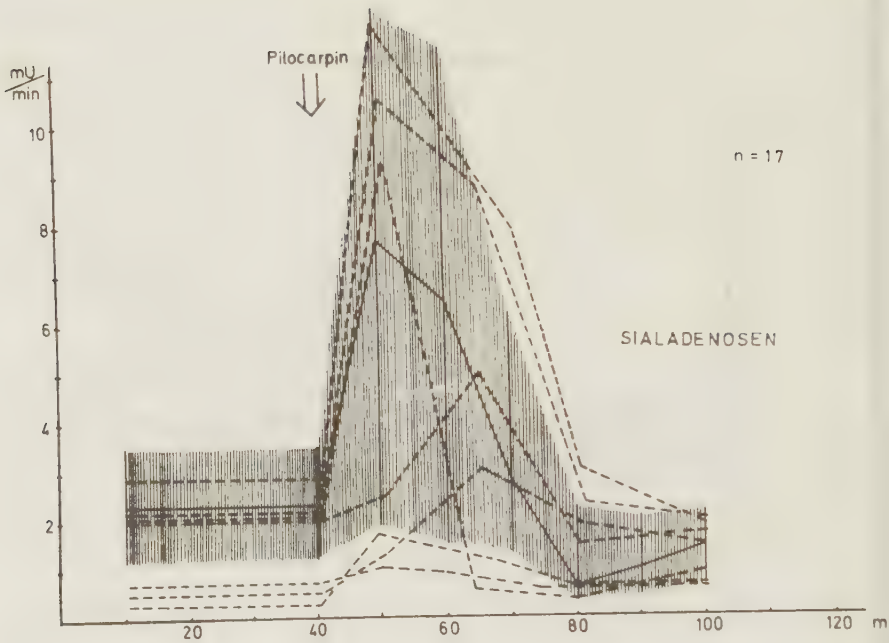


Abb. 10 Gesamt-BAEE-Esterase-Ausscheidung bei Sialadenosen in Ruhe und nach Pilocarpinreiz. Ein Teil der Drüsen verhält sich normal, der andere liegt gering unter dem Normbereich.

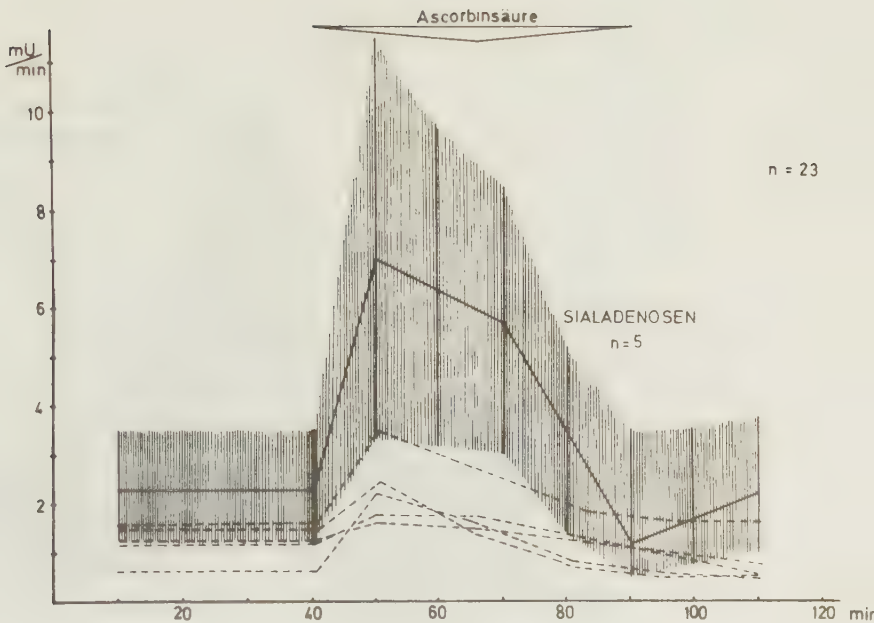


Abb. 11 Gesamt-BAEE-Esterase-Ausscheidung bei Sialadenosen in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Ruhesekretion liegt im untersten Normbereich. Unter Stimulation erfolgt ein geringerer Anstieg als normal.

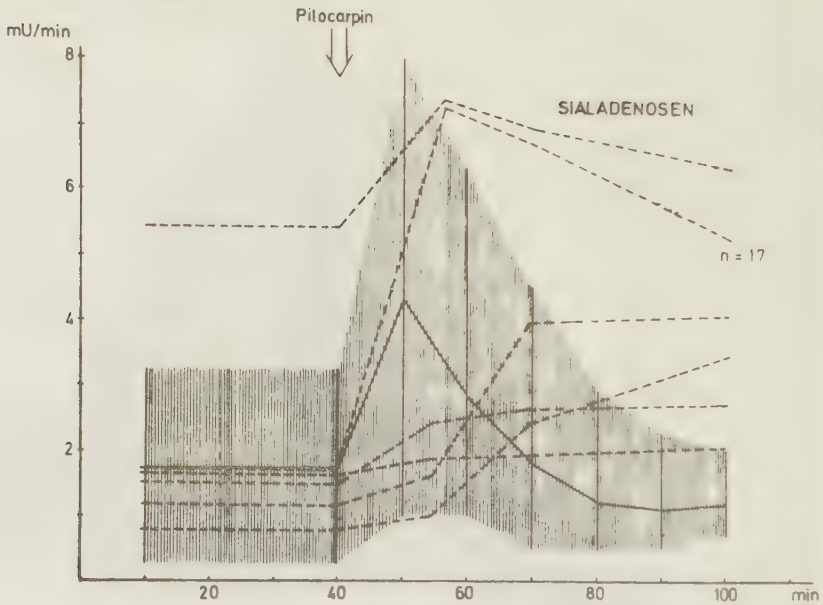


Abb. 12 Gesamt-Trypsininhibitorausscheidung bei Sialadenosen in Ruhe und nach Pilocarpinreiz. Die Ruhesekretion ist mit Ausnahme einer Drüse normal. Unter Stimulation steigen die Werte langsam an und bleiben deutlich über den Basissekretionswerten.

3. Chronische Sialadenitiden

Flußrate

Alle Patienten wiesen sowohl in Ruhe als auch nach Stimulation eine stark reduzierte Flußrate auf. Das Ruhesekret war im Gegensatz zum gesunden wasserklaren Parotissekret meist milchig bis gelblich trübe und hochviskös.

Gesamtprotein

Trotz stark erniedrigter Flußraten war die stark schwankende Proteinausscheidung im Ruhesekret normal. Nach Stimulation stieg sie entsprechend der geringen Flußratenzunahme an, erreichte jedoch im Vergleich zum Normalkollektiv nicht so hohe Werte. Dagegen lagen die Eiweißkonzentrationen bei Ruhe und Reiz signifikant höher als im normalen Drüsensekret.

(Abb. 13)

Diskelektrophorese

Bei den chronisch intermittierenden Parotitiden im akuten Stadium fanden sich folgende Veränderungen im Ruhesekret. Die Zone c_1 der Glykoproteine trat stärker hervor; die Bandengruppe der Amylasen (d_{1-4}) und die Banden i, j, j_1 waren abgeschwächt zugunsten der Albuminbande h. Nach Reiz zeigten die Banden

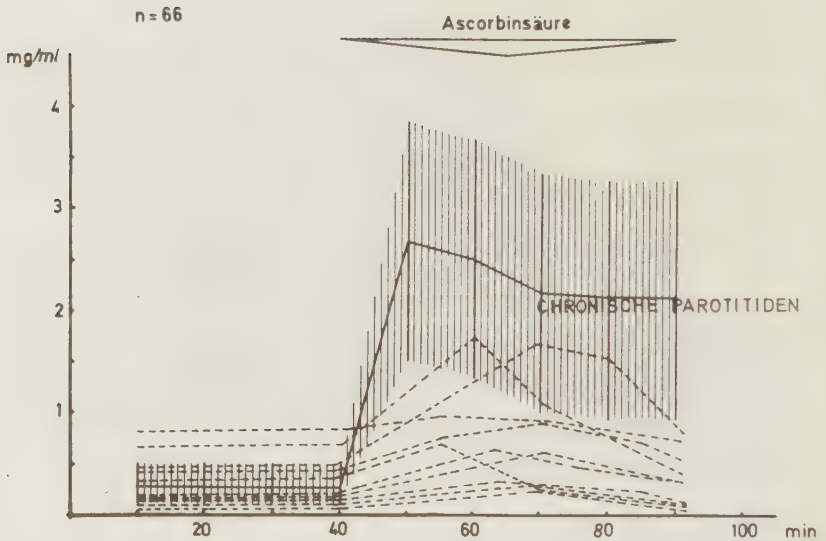


Abb. 13 Gesamtproteinausscheidung bei chron. Sialadenitiden in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Sekretion ist in Ruhe normal; unter Reiz steigt sie leicht an, bleibt jedoch überwiegend unter dem Normbereich.

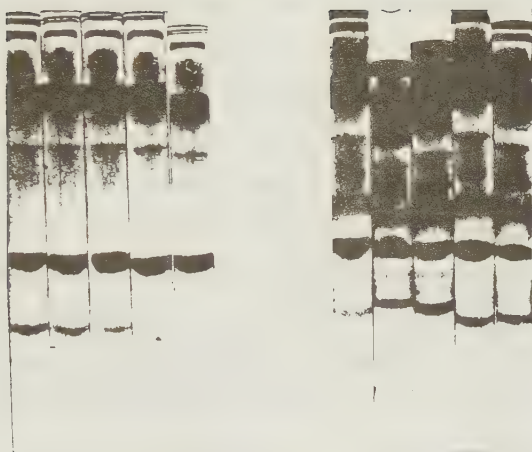


Abb. 14 Diskelektrophoretische Auftrennung des Speichels
einer entzündlich veränderten Glandula Parotis

a bis c sowie die Zwischenzone c_1 einen Intensitätsverlust analog dem Verhalten normaler Reizsekrete, die Amylaseausscheidung fiel jedoch von 31 auf 29 rel.%. Die Banden e, f, g, i, j, j_1 wurden stärker. Im Gegensatz zum Normalsekret, bei dem eine Verschmälerung der Albumin-Bande nach Stimulation zu verzeichnen war, blieb die Albuminausscheidung konstant. (Abb. 14)

Die chronischen Entzündungen im freien Intervall zeigten in Ruhe vergleichsweise zum Normalkollektiv eine deutliche Intensitätszunahme der Zone c_1 und der e-Bande. Während die Amylasenkonzentration annähernd normale Werte erreichte, betrug die Albuminmenge nur 5 rel.%. Unter Reiz sank die Amylasenausscheidung von 38 auf 32 rel.%, die Albuminsekretion jedoch verdoppelte sich.

Immunglobulin A

Die Ruhesekretionswerte befanden sich im Normbereich, unter Reizbedingungen stieg die Ausscheidung nur geringfügig an. Analog dem Gesamtprotein war sowohl im Ruhe- als auch im Reizsekret eine wesentlich höhere Konzentration an IgA meßbar. (Abb. 15)

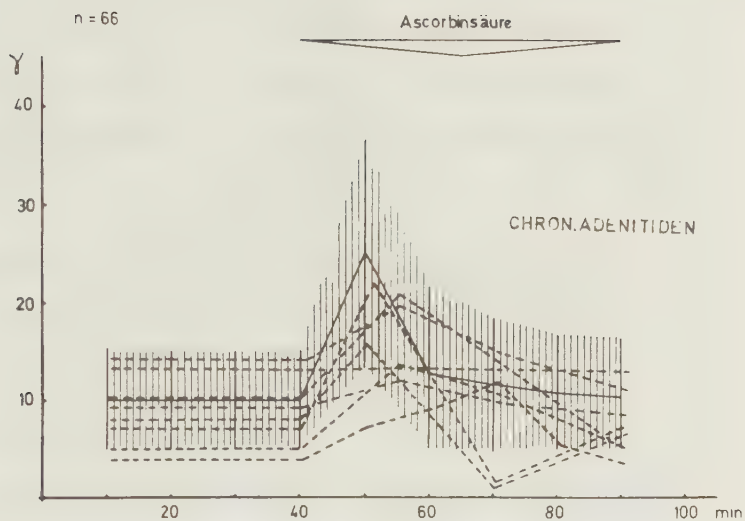


Abb. 15 Gesamt-Immunglobulin A-Ausscheidung der chronischen Sialadenitiden in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Ruhesekretion liegt im Normbereich, der Anstieg unter Stimulation ist geringer als normal.

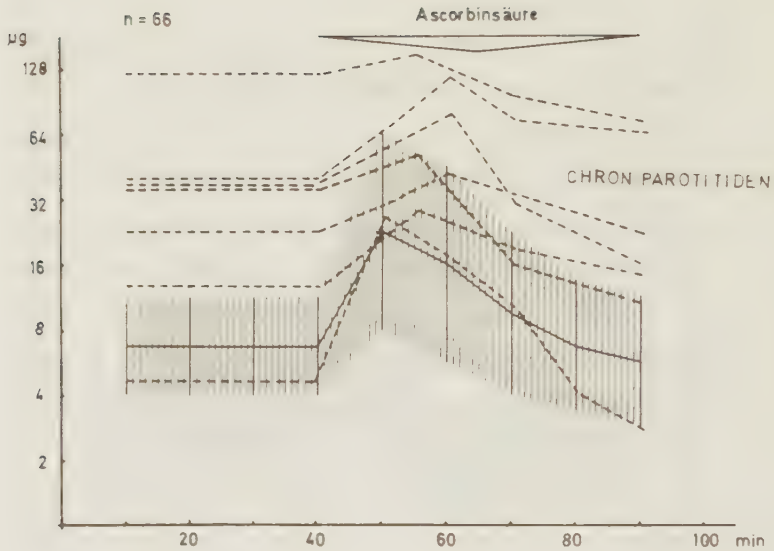


Abb. 16 Gesamt-Lysozymausscheidung der chronischen Sialadenitiden in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Ruhe- und Reizwerte sind deutlich erhöht.

Lysozym

Im Gegensatz zur Gesamtprotein- und IgA-Ausscheidung zeigte die Lysozymsekretion trotz stark reduzierter Flußrate eine deutliche Erhöhung. Signifikant wurde dieser Unterschied bei Konzentrationsbestimmungen im Sekret, wobei gemäß der niedrigen Flußrate ein hoher Gehalt an Lysozym gemessen werden konnte. (Abb. 16)

Kallikrein

Die Sekretionsraten an BAEE-Esterase lagen in Ruhe unter dem Normbereich. Nach Stimulation erreichte die sezernierte Enzymmenge die unteren Normwerte. Es zeigte sich jedoch eine rasche Erschöpfbarkeit der Drüse nach Absetzen des Reizes. (Abb. 17)

Trypsininhibitor

Die Ruhesekretwerte überschritten nicht den unteren Normbereich. Nach Stimulation ergab sich ein geringer Anstieg der sezernierten Hemmstoffaktivität, die langsam wieder auf die Ausgangswerte absank. (Abb. 18)



Abb. 17 Gesamt-BAEE-Esterase-Ausscheidung der chron. Sialadenitiden in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Ruhesekretion liegt unter dem Normbereich. Nach Stimulation werden die unteren Normwerte erreicht; es zeigt sich eine starke Erschöpfbarkeit der Drüse nach Absetzen des Reizes.

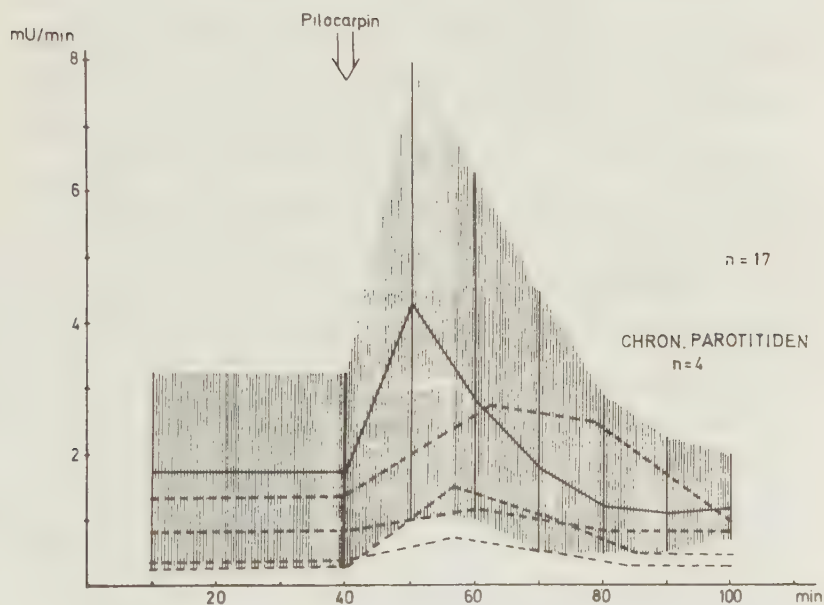


Abb. 18 Gesamt-Trypsininhibitorausscheidung bei chron. Sialadenitiden in Ruhe und nach Ascorbinsäurereiz. Die Ruhewerte liegen im unteren Normbereich. Nach Stimulation erfolgt ein geringerer Anstieg als normal; die Sekretionsmaxima werden verspätet erreicht.

E D i s k u s s i o n

Die Ohrspeicheldrüsen produzieren etwa 25 % des Gesamtruhespeichels und 35 - 60 % des Reizsekretes, je nach Reizart. Erkrankungen dieser Drüsen können demnach durch Veränderungen in der Gesamtspeichelzusammensetzung die Abwehrlage der Mundhöhle erheblich beeinträchtigen. Bisher gibt es noch keine Untersuchungen über biochemische Veränderungen, insbesondere hinsichtlich der Eiweißzusammensetzung bei bestimmten Drüsenerkrankungen. Nur vereinzelt sind in der Literatur Elektrolytbestimmungen bei Ohrspeicheldrüsenentzündungen angeführt.

Deshalb wurde versucht, mit biochemischen Methoden die charakteristischen Merkmale entzündlicher und degenerativer Veränderungen der Ohrspeicheldrüsen herauszuarbeiten.

Die Sialadenosen zeigen normale bis erhöhte Flußratenwerte. Nach Pilocarpinreiz setzt die Wirkung verspätet ein, hält jedoch länger an. Die Gesamtproteinausscheidung liegt nach Reiz signifikant unter der Norm. Die Verminderung der Gesamtproteinkonzentration äußert sich bei der diskelektrophoretischen Auftrennung in einem Hellerwerden der Banden im Vergleich zu Normalbefunden. Gesamt-Immunglobulin A- und Lysozymausscheidung werden überwiegend unter dem Normbereich gemessen.

Die Kallikreinsekretion stellt sich bei den Sialadenosen als sehr empfindlicher Parameter dar für das Ausmaß der bereits erfolgten Schädigung des Drüsenparenchyms. Bei Drüsen, die klinisch erst seit kurzem Beschwerden verursachen, fand sich eine nahezu normale Kallikreinausscheidung. Bei länger andauernden Krankheitsprozessen zeigt sich eine parallel verlaufende Sekretionsminderung an Kallikrein.

Das Sekretionsverhalten des Trypsininhibitors, der erstmals im Parotissekret beschrieben wird, ist in Ruhe normal. Nach Reiz werden im Gegensatz zum Normalkollektiv die Basissekretionswerte nicht mehr erreicht.

Die chronischen Sialadenitiden weisen im Vergleich zum Normalbefund und besonders zu den Sialadenosen eine stark reduzierte Flußrate auf. Trotzdem ist die Proteinausscheidung im Ruhesekret normal. Die Eiweißkonzentrationen liegen bei Ruhe und Reiz signifikant höher als im Sekret der gesunden Drüsen. Bei der Diskelektrophorese finden sich durch Serumproteine verursachte Bandenvermehrungen bzw. -verstärkungen.

Da die Amylase den Hauptanteil der von den Drüsenacini sezernierten Proteine ausmacht, erlauben die Amylasenbanden einen Einblick in die Kapazität des Parenchyms. Die Albuminausscheidung andererseits bringt die entzündlich bedingte Permea-

bilität des Ausführungsgangsepithels zum Ausdruck. Eine erhöhte Transsudation von Albumin kann somit als Parameter für den Schädigungsgrad des Ausführungsgangsystems gelten. In Serumvergleichsläufen wurde übereinstimmend mit OPPENHEIM und Mitarbeitern die von ihm als Albumin vermutete Bande an gleicher Stelle der Elektrophorese gefunden.

Analog dem Gesamtprotein ist bei den chronischen Sialadenitiden sowohl im Ruhe- als auch im Reizsekret eine wesentlich höhere Konzentration an Immunglobulin A meßbar als im normalen Sekret. Auch die Lysozymausscheidung zeigt im Vergleich zum Normalkollektiv deutlich höhere Werte.

Somit ermöglichen allein die vier Parameter Flußrate, Gesamtproteinausscheidung, Immunglobulin A- und Lysozymgehalt des Sekretes eine eindeutige Unterscheidung zwischen Sialadenosen und chronischen Sialadenitiden.

Zusammenfassung

Nach fraktionierter Abnahme wurden Ruhe- und Reizsekret von menschlichen Ohrspeicheldrüsen mit Sialadenosen und chronischen Sialadenitiden bezüglich Flußrate, Gesamtproteinausscheidung, diskelektrophoretischer Auftrennung sowie Immunglobulin A-, Lysozym-, Kallikrein- und Trypsininhibitorgehalt untersucht. Die Befunde wurden mit den an normalen Drüsen gewonnenen Ergebnissen in Beziehung gesetzt.

Es zeigte sich, daß durch sialochemische Untersuchungen eine Unterscheidung zwischen den klinisch oft schwierig zu differenzierenden Krankheitsbildern der Sialadenosen und chronischen Sialadenitiden möglich ist. Flußrate, Gesamtproteinausscheidung, Immunglobulin A- und Lysozymgehalt des Sekretes stellen dabei die wichtigsten Parameter dar.

Die Flußraten sind bei den chronischen Entzündungen stark erniedrigt, wogegen bei den Sialadenosen normale bis erhöhte Werte gefunden werden. Die Lysozymausscheidung ist bei den chronischen Sialadenitiden im Vergleich zu den Sialadenosen deutlich erhöht. Auch Immunglobulin A und Gesamtprotein zeigen, vor allem unter Berücksichtigung der Konzentration, ein ausgeprägt unterschiedliches Verhalten

bei beiden Gruppen. Während bei den chronischen Ohrspeicheldrüsenentzündungen die Proteinkonzentration stark erhöht ist, ergibt sich für die Sialadenosen eine Konzentrationsverminderung. Ebenso verhält es sich mit den Immunglobulin A-Werten.

Es scheint somit die sialochemische Differenzierung zwischen Sialosen und chronischen Sialadenitiden möglich.

Literaturverzeichnis

1. Amundsen E., K. Nustad: kinin-forming and destroying activities of saliva, Brit.J.Pharm. 23(1964)440
2. Alderton G., W.H. Ward and H.L. Fevold: Isolation of Lysozym of egg white. J.biol.chem. 157 (1955) 43-58
3. Bhoola K.D.: Intracellular distribution of submaxillary kallikrein, J.Physiol. 196(1968)431
4. Bhoola K.D.: Comparative study of the subcellular distribution of submaxillary kallikrein, Biochem. Pharmacology 18(1969)1252
5. Brands Th.: Diagnose und Klinik der Erkrankungen der großen Kopfspeicheldrüsen. Urban und Schwarzenberg, München 1972
6. Brandtzaeg P.: Human sekretory immunglobulins, VII. Concentrations of parotid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration of secretory stimulus. Archs. oral. Biol. 16(1971) 1295
7. Caldwell R.C., W. Pigman: Disc Electrophoresis of human saliva in polyacrylamide gel. Arch. Biochem. Biophys. 110 (1965) 91
8. Chauncey H.H. u. a.: Enzymes of human saliva, J.D. Res. 33 (1954) 321
9. Chodirker W.B., Tomase T.B.: Gamma-globulins: quantitative relationship in human serum and non vascular fluids. Science 142 (1963) 1080

10. Dawes C., B.Y.Ong: Circadian Rhythms in the concentrations of Protein and the main Electrolytes in human unstimulated Parotid Saliva. Arch. oral. Biol. 18 (1973) 1233
11. Ferguson D.B. u.a.: Circadian rythm in human parotid flowrate and composition. Arch. oral. Biol. 18 (1973) 1155
12. Fleming A., V.D.Allison: Observation on the bacteriologic substance ("lysozym") found in secretions and tissues. Brit.J.exp.Path. 12 (1922) 252
13. Frey E.K., Kraut H., Werle E., Vogel R., Zickgraf-Rüdel G., Trautschold I.: Das Kallikrein-Kinin-System und seine Inhibitoren, Stuttgart: Enke 1968
14. Gabl F.: Elektrophoretische und immunologische Untersuchungen spezieller Speichereiweißkörper. Protides Biol. Fluids Proc. Coll. 10 (1962) 230
15. Heuckenkamp P.U. u.a.: Die Trypsinhemmung in ausgewählten Sera eines poliklinischen Patientengutes. Pneumonologie 148 (1973) 303
16. Hochstrasser K. u.a.: Isolierung und Charakterisierung eines Proteaseninhibitors aus menschlichem Bronchialsekret. Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 353 (1972)
17. Mandel I.D. and H.S. Khurana: The relation of human salivary gamma-A-globulin and albumin to flow rate. Archs.oral.Biol.Vol. 14 (1969) 1433
18. Maurer C.: Schnellbestimmung von Gesamtprotein im Liquor cerebrospinalis ohne Fällung mit einer modifizierten Biuret-Methode. Z. klin. Chem. Biochem. 6 (1968) 217

19. Maurer H.R.: Diskelektrophorese, De Gruyter, Berlin 1968
20. Meyer P., K.Vogt, R.Zippel: Zur Bestimmung von Gesamteiweiß im Speichel. Z.Laryng. Rhinol. 46 (1967) 905
21. Oppenheim F.G.: Preliminary observations on the presence and origin of albumin in human saliva, Helv. odont.Acta 14 (1970) 10
22. Rauch S.: Die Speicheldrüsen des Menschen. Thieme Stuttgart 1955
23. Reichert R. u.a.: Nachweis eines niedermolekularen Proteaseninhibitors in menschlichem Bronchialsekret. Laryng.Rhinol. 51 (1972) 190
24. Seifert G.: Die pathologische Anatomie der Speicheldrüsenenerkrankungen, HNO-Wegw.Bd.13 (1965) 1
25. Seifert G.: Klinische Pathologie der Sialadenitis und Sialadenose, HNO-Wegw.Bd.19 (1971) 1
26. Seifert G.: Die Pathologie der Speicheldrüsen im Rahmen der Kollagenkrankheiten, HNO-Wegw.Bd.19 (1971) 193
27. Skurk A., G. Miynski, K. Fendel: Methoden der quantitativen Eiweißbestimmung im menschlichen Parotispeichel. Acta otorhinolaryng. 71 (1971) 71
28. Tomasi.T.B., J. Bienenstock: Secretory immunglobulins. Advanc. Immunol. 9 (1968) 1
29. Trautschold I., E. Werle: Spektrophotometrische Bestimmung des Kallikreins und seiner Inaktivatoren. Hoppe-Seyler's Z. f. phys. Chem. 325 (1961) 48

30. Trautschold I., G. Schweitzer: Kallikrein: in Methoden der enzymatischen Analyse
H.U.Bergmeier, Weinheim Verlag Chemie 1969
31. Ungerecht K.: Diagnostik und Therapie der Parotiserkrankungen, Münch. med. W. 116 nr.9 (1974) 439
32. Vogt K., J. Zahl: Über Einflüsse von Diabetes mellitus und Geschlecht auf die Sekretion der Glandula parotis des Menschen. Arch. klin. exp. Ohr-, Nas.- u. Kehlk.-Heilk. 203 (1973) 310
33. Vogt K., W.M.Seemann: Zur physiologischen Beeinflussung der Gesamtproteinsekretion der großen Kopfspeicheldrüsen durch Tageszeit, Alter und Geschlecht. Z.Laryng.Rhinol. 49 (1970) 611
34. Werle E., P.v.Roden: Über das Vorkommen von Kallikrein in den Speicheldrüsen und im Mundspeichel, Biochem. Zeitschr. 286 (1936) 213
35. Wolf R.O., Taylor L.L.: A comparative study of Saliva protein analysis. Arch.oral.Biol. 9 (1964) 135
36. Wotman S., L. Greenbaum, I.D.Mandel: Studies on human salivary kallikrein, Biochem. Phar. 18 (1969) 1261

L e b e n s l a u f

geboren am 21. 7. 1951 in Augsburg

Eltern: Bruno Budczinski, Spengler- und Installateurmeister

Rosa Budczinski, geb. Böck

Konfession: römisch-katholisch

Familienstand: ledig

Ausbildungsgang:

1957 - 1961 Volksschule in Augsburg

1961 - 1970 Neusprachliches Gymnasium der Englischen
Fräulein, Augsburg

1970 - 1977 Medizinstudium an der Ludwigs-Maximilian-
Universität München

Febr. 1977 Abschluß des Staatsexamens

seit

1. 8. 1977 Medizinalassistentin im Städt. Krankenhaus
Kaufbeuren

